

野生与栽培白头翁药用部位解剖结构
和皂苷组织化学定位*

王桂芹¹, 努尔巴衣·阿布都沙勒克²

(1 安徽科技学院生物系, 安徽 凤阳 233100; 2 新疆大学资源与环境科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830046)

摘要: 利用解剖学和组织化学的方法, 研究了野生和栽培白头翁 (*Pulsatilla chinensis*) 主根的解剖结构和皂苷组织化学定位。结果表明: 野生白头翁根部韧皮纤维散在, 而栽培白头翁的则多个聚集成环状或其它形状; 栽培白头翁根的次生木质部导管管腔内富含侵填体; 野生白头翁根中分泌腔和分泌道丰富; 分泌腔与分泌道的数量及大小是决定白头翁皂苷物质含量高低的主要因子。因此, 分泌腔与分泌道大小和数量的多寡可以作为判断所选育的白头翁品种是否优良的结构性指标。

关键词: 白头翁; 主根; 分泌腔和分泌道; 皂苷; 组织化学定位

中图分类号: Q944.68 文献标识码: A 文章编号: 0253-2700 (2007) 05-492-05

Anatomical Structure Comparison and Barbloin Histochemical
Localization of Wild and Cultivated *Pulsatilla*
chinensis (Ranunculaceae)

WANG Gui-Qin¹, Abdusalerk N²

(1 Biological Department of Anhui Science and Technology College, Fengyang 233100, China;

2 Resource and Environment College, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract: Anatomical structure and the content of barbloin in primary roots of *Pulsatilla chinensis* were studied by means of anatomy and histochemical localization. The differences between wild and cultivated *P. chinensis* were as follows: the phloem fiber in roots of wild *P. chinensis* was dispersed, while that in the cultivated roots gathered to circular or other shapes; a large amount of invade body was found in the vessel cavity of the cultivated; secretory ducts and secretory cavities were rich in the wild, the number and size of which are the main factors determining the barbloin content of *P. chinensis*.

Key words: *Pulsatilla chinensis*; Primary root; Secretory ducts and secretory cavities; Barbloin; Histochemical localization

白头翁 (*Pulsatilla chinensis* (Bge.) Regel.) 为毛茛科白头翁属多年生草本植物, 根入药 (国家药典委员会, 2005)。白头翁作为中药始载于《神农本草经》。其性寒、味苦、具有清热解毒、凉血止痢、燥湿杀虫的功效。现代药理研究表明: 白头翁具有抗病原虫 (闫艳等, 2006;)、抑菌抗炎 (杨银书等, 2006; 时维静等, 2006)、治疗慢性结肠炎和溃疡性结肠炎 (韩清等,

1996)、抗生育 (幕慧等, 1996) 作用; 还具有抗肿瘤活性 (冯丹等, 2003)、抗肝损伤 (Dachum 等, 2004; 王灵宵等, 1999)、增强免疫功能 (戴玲等, 2000) 等作用; 此外, 在兽医临床上可用于治疗多种牛、羊疾病; 在农业生产上, 白头翁对小麦赤霉病菌和水稻白叶枯病菌等均表现出很好的抑制活性 (张超等, 1999)。

目前, 对白头翁的研究主要集中在化学成分

* 基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目 (G1999043508); 安徽科技学院引进人才专项 (ZRC200436)

收稿日期: 2006-12-20, 2007-06-07 接受发表

作者简介: 王桂芹 (1954-) 女, 教授, 从事结构植物学研究。E-mail: wgq6112@sina.com

及活性(张庆文等, 2000)、药理作用(付云明等, 2006)、常见伪品鉴别(王胜勇等, 2004)、组织培养(张子学等, 2004)等方面。关于白头翁药用部位的解剖结构比较和组织化学定位研究未见报道。

近年来, 对白头翁的需求量逐年增加, 通过对野生白头翁与栽培白头翁药用部位进行同步的解剖学比较研究, 旨在为白头翁药材的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

野生白头翁于 2005 年 4 月采自安徽大别山, 栽培白头翁 2005 年 4 月采自安徽科技学院药用植物园。皂苷测定所用材料无论是野生还是栽培白头翁均为 3 年生同一部位(切去主根顶端 0.5 cm 后, 截取 0.4 cm 小段); 解剖结构比较中所用材料为 2 年生(用于根的中心部位比较)和 3 年生(其它部位的比较)。样品均保存在安徽科技学院园林植物标本室。

1.2 方法

1.2.1 总皂苷含量测定 供试样品溶液制备: 将野生和栽培白头翁的主根取出, 立即用自来水冲洗干净, 置于 50℃ 烘箱中进行干燥, 粉碎成 60 目粗粉。分别取 1.0 g 加入 95% 乙醇 10 mL, 热回流提取 3 h, 过滤浓缩后, 置于 50 mL 容量瓶中, 加 95% 乙醇置刻度, 过滤离心, 配制为 1 g/L 药材的供试样品溶液; 标准品(安徽中药学院提供)溶液配置(略)。利用紫外分光光度计(UV-160A 型日本岛津)分别测定野生和栽培白头翁皂苷含量(重复 3 次, 取均值)。以甲醇溶液作为空白对照, 将标准品及供试品溶液置于 200 nm~400 nm 波长范围内扫描, 结果均发现在 205 nm 处有最大吸收峰。同时用标准品溶液的吸收度为纵坐标, 浓度为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程: $y = 260.23x - 10.583$, $R^2 = 0.9990$ 。

1.2.2 皂苷组织化学定位 利用野生白头翁新鲜主根(根茎后部)直接切片, 切片后用 5% 香草醛、冰醋酸溶液和高氯酸混合试剂显色(刘世彪等, 2005; 乔琦等, 2004)。

1.2.3 显微结构比较 将野生和栽培白头翁采回, 分别取其主根, 用自来水浸泡 24 h, 再用自来水冲洗去掉泥土, 切去主根顶端(0.5 cm 长)后, 同时截取 0.4 cm 长度的小段, 投入 FAA 液中进行固定, 梯度乙醇脱水, 石蜡切片法制片, 番红固绿双重染色, 切片厚度 12 μm , 数码显微镜下观察照相。观察数据均为 15 个视野所测数据的平均值。

2 结果与分析

2.1 野生与栽培白头翁主根皂苷含量比较

根据回归方程得: 野生白头翁皂苷含量为 61.67 mg/g, 栽培白头翁皂苷含量为 43.36 mg/g。

2.2 皂苷组织化学定位

白头翁皂苷能与皂苷显色剂发生反应。结果表明: 根中不同部位, 白头翁皂苷的种类、分布和积累的情况不同。分泌腔、分泌道显棕黄色(图版 : 12); 次生韧皮部被染成粉红色(图版 : 13); 次生木质部中导管的管壁被染成绿色(图版 : 4); 构成维管射线和栓内层的薄壁细胞不发生颜色反应。

2.3 白头翁根横切面结构特点

根的横切面中心: 野生白头翁为一条又宽又长的分泌道所占据(图版 : 1); 栽培白头翁则由初生木质部和次生木质部占据(图版 : 2)。

木栓层: 野生白头翁由 10~15 层细胞组成, 细胞长方形作切向延长, 外有棕黄色的栓皮脱落, 木栓形成层明显, 由一层小细胞构成, 构成木栓层的细胞有两种, 一种长方形切向延伸, 另一种近方形(图版 : 3); 栽培白头翁木栓比野生白头翁发达, 约由 28~30 层细胞构成(图版 : 4)。

栓内层: 野生白头翁由 8~10 层细胞构成; 栽培白头翁较狭窄, 约 6~8 层细胞构成; 两者的栓内层中均有分泌腔和分泌道的分布, 但野生的较栽培的含量丰富。

次生韧皮部: 野生与栽培白头翁比较, 韧皮纤维存在的状态明显不同, 在野生白头翁的根中韧皮部纤维散在, 偶见多个聚集在一起, 但绝不呈环存在(图版 : 3); 栽培白头翁根中的韧皮纤维呈环状形式存在或多个聚集在一起, 偶见散在(图版 : 5); 次生韧皮部中均有分泌腔和分泌道的分布, 同样表现为野生的较栽培的含量丰富(图版 : 8), 但次生韧皮部厚度却基本相同(图版 : 7)。

木质部: 均由导管、管胞、木纤维和木薄壁细胞组成。在栽培白头翁根中的木质部内, 许多导管的管腔内含有侵填体(图版 : 6), 维管射线较宽(图版 : 10); 而野生白头翁导管的管腔内未见侵填体的存在, 维管射线较窄(图版 : 9), 且维管射线局部区域的细胞破裂形成较

大的气隙（图版：11）。

2.4 野生与栽培白头翁根横切面结构差异分析

野生白头翁根中分泌腔、分泌道含量十分丰富，与栽培白头翁比较差异达极显著（表1）。栽培白头翁维管射线发达，与野生白头翁比较差异达极显著：野生白头翁与栽培白头翁次生韧皮部宽度比较差异不显著（表2）。同一生长龄的野生白头翁皂苷类物质的含量高于栽培白头翁。栽培白头翁由于生存环境良好，水、肥供应充足，有利于薄壁组织中细胞个体的体积增加，因此其主根横切面的维管射线十分发达，组织化学定位说明维管射线的细胞中并不形成和贮藏皂苷类物质，皂苷类物质的形成和贮藏主要与次生韧皮部、分泌腔和分泌道有关。野生白头翁与栽培白头翁次生韧皮部的宽度几乎相同，因此分泌腔与分泌道的数量及大小是决定白头翁根中皂苷类物质含量高低的主要因子。

表1 野生和栽培白头翁根中分泌腔和分泌道数量比较
Table 1 Comparison of secretory cavities and secretory ducts in the roots of wild and cultivated *P. chinensis*

来源 Resource	分泌腔平均数（个） Secretory cavity (average)	分泌道平均数（个） Secretory ducts (average)
野生 Wild	7.17 ^a	4.00 ^a
栽培 Cultivated	4.75 ^b	2.00 ^b

注：不同字母表示差异显著 $P < 0.05$ 。Different letters within columns indicate significantly different $P < 0.05$

表2 野生和栽培白头翁根中维管射线和次生韧皮部宽度比较
Table 2 Comparison of width of vascular rays and secondary phloems in the roots of wild and cultivated *P. chinensis*

来源 Resource	维管射线宽度（ μm ） Width of vascular rays	次生韧皮部宽度（ μm ） Width of secondary phloems
野生 Wild	536.6 ^a	644.5 ^a
栽培 Cultivated	694.2 ^b	643.2 ^a

注：不同字母表示差异显著 $P < 0.05$ 。Different letters within columns indicate significantly different $P < 0.05$

3 结果与讨论

3.1 野生白头翁与栽培白头翁显微结构鉴别

野生白头翁与栽培白头翁显微结构存在明显区别，主要表现为：野生白头翁的栓内层及次生韧皮部中分泌腔和分泌道密集；次生维管组织中维管射线较栽培白头翁狭窄；韧皮纤维散在；主

根的初生构造中有髓存在，且髓部有分泌腔和分泌道。栽培白头翁多个韧皮纤维集聚在一起，呈环状或其他形状，偶见单独存在；次生木质部中导管的管腔内富含侵天体；维管射线宽大。以上特征可作为鉴别野生白头翁与栽培白头翁的参考依据。

3.2 白头翁根中皂苷类物质的种类

根据皂苷组织化学定位可以推断：白头翁根中的皂苷有两种类型，分泌腔、分泌道和次生韧皮部中是三萜皂苷（显棕黄色或粉红色），次生木质部管壁中的应是甾式皂苷（最终显绿色）（北京医学院和北京中医学院，1982）。白头翁根中具有甾式皂苷，鲜见报道。

3.3 人工栽培白头翁应注意的问题

国内外对白头翁中的三萜皂苷进行了深入研究，共分离鉴定出19种成分，分属于羽扇豆烷型和齐墩果烷型，同时以此作为母核研制出预防肿瘤和艾滋病新药（Ye等，2002）。故白头翁的用量将大幅度攀升，野生白头翁的资源日趋受到威胁，白头翁的人工栽培势在必行。而栽培中的关键问题是选育优良品种。分泌腔与分泌道的数量及大小是决定白头翁皂苷类物质含量高低的主要因子，因此，分泌腔和分泌道的大小及数量变化不仅可以作为判断皂苷含量变化的指标，同时也可以作为判断所选育的品种是否优良的结构性指标，此指标更具直观性，且简便易于操作。

中草药栽培是以获取某种次生物质为目的，植物的次生物质积累除决定于植物的遗传特性外，还受外界因素如环境条件的影响（甲继忠，1998）。根据实验结果可推测中草药的栽培中水肥的数量变化与次生代谢产物的积累并不一定成正相关，因此在中草药栽培管理上应有别于农作物的栽培，采用仿野生栽培有可能获得较为理想的栽培效果。

〔参 考 文 献〕

王灵宵，路西明，王建刚，1999.白头翁对利福平异烟肼肝毒性影响的实验研究[J].中国全科医学杂志，2：288—289
甲继忠，1998.农药对高等植物次生代谢的影响及其生态学意义[J].农药译丛，20：41—45
北京医学院，北京中医学院，1982.中草药成分化学[M].北京：人民卫生出版社，446

时维静, 路振香, 李立顺, 2006 . 白头翁不同提取物及复方体外
抑菌作用的实验研究 [J] . 中国中医药科技, **13** (3):
166—168

国家药典委员会, 2005 . 中华人民共和国药典一部 [M] . 北京:
化学工业出版社, 78—24

张超, 吴恭谦, 期伍越寰等, 1999 . 拟原白头翁素 A 大田防治小
麦赤霉病药效试验 [J] . 安徽农业科学, **27**: 391—392

Dai L (戴玲), Wang H (王华), Chen Y (陈彦), 2000 . The im-
mune enhancing effect of PcG A—a glycoprotein isolated from
dried root of *Pulsatilla chinensis* (Bunge) Regel [J] . *Chin J Bio-
chem Pharm* (中国生化药物杂志), **21** (5): 230—231

Dachun Y, Athanasios G, Vlessidis *et al* . 2004 . Chemiluminescence de-
tection of xupiroxide anion release and superoxide dismutase activity:
modulation effect of *Pulsatilla chinensis* [J] . *Anal Bioanal Chim*,
379: 171—177

Feng D (冯丹), Zhong CB (钟长斌), 2003 . The-tumor effect of the
extract from *Radix pulsatillae* [J] . *Chin Hosp-Pharm J* (中国医
院药学杂志), **23**: 532—533

Fu YM (付云明), Chen H (陈虹), 2006 . Studies on the pharmacog-
nostic identification, chemical composition and pharmacology of
Pulsatilla [J] . *Acta Academis Medicin CPAPF* (武警医院学报),
15: 483—487

Han Q (韩清), Kong XM (孔祥梅), Zhang YQ (张延群), 1996 .
Observations of the soup of *Pulsatilla chinensis* 's curative effect in
treating 35 chronic colonitis cases [J] . *J New Chin Medi* (新中
医), 21—23

Liu SB (刘世彪), Lin R (林如), Hu ZH (胡正海), 2005 . Histo-
chemical localization of ginsengosides in *Gynostemma pentaphyllum*
and the content changes of total gypenosides [J] . *Acta Biolog Experi-
ment* (实验生物学报), **38**: 54—60

Mu H (慕慧), Du JJ (杜俊杰), 1996 . Study on the in vitro steriliza-
tion effect of *Pulsatilla chinensis* 's barbloin [J] . *Northwest Pharm
J* (西北药学杂志), **11**: 119—120

Qiao Q (乔琦), Xiao YP (肖娅苹), Wang ZS (王之山), 2004 .
Anatomical structure and histochemical localization of the drupe of
Macrocarpium officinale [J] . *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究),
26 (6): 651—655

WangSY (王胜勇), Zhang M (张勉), Wang ZT (王峥涛), 2004 .
Microscopic identification of homonym drugs of “ Baitouweng ” by
digital imaging technique [J] . *Acta Pharm Sin* (药学学报), **39**:
797—802

Yang YS (杨银书), Chang DH (常德辉), 2006 . Study on disinfec-
tion efficacy of extract of *Radix pulsatillae* [J] . *Chin J Disinfection*
(中国消毒学杂志), **23**: 324—326

Yan Y (闫艳), Yuan LJ (袁丽杰), Fan L (樊璐), 2006 . Transmis-
sion electron microscope observation on the ultrastructure of

Trichomonas vaginalis treated by *Pulsatilla chinensis* in vitro [J] .
Chin J Parasit Disease Contr (中国病原生物学杂志), **23**:
324—326

Ye WC, Jin N, Zhao SX *et al* . 2002 . New lupine glycosides from *Pul-
satilla chinensis* [J] . *Planta Medica*, **68**: 183—186

Zhang QW (张庆文), Ye WC (叶文才), Che ZT (车镇涛), 2000 .
Triterpene saponins from *Pulsatilla cernua* [J] . *Acta Pharm Sin*
(药学学报), **35**: 756—759

Zhang ZX (张子学), Ding WQ (丁为群), Tang Y (唐勇), 2004 .
Study on tissue culture of pasque flower [J] . *China J Chin Mat Med*
(中国中药杂志), **29**: 215—218

图版说明

缩写: Sd 分泌道; Sx 次生木质部; Sp 次生韧皮部; Pf 纤维;
Ph 木栓; Sc 分泌腔; Ty 侵填体; Vr 维管射线; Vt 裂隙
图版 : 1~14, 比例尺 = 150; 129; 143; 132; 131; 140; 132;
140; 144; 134; 162; 147; 146; 141 μm
1 . 野生白头翁根横切面, 示次生木质部, 分泌道; 2 . 栽培白头
翁根横切面, 示次生木质部, 维管射线; 3 . 野生白头翁根横切
面, 示韧皮纤维, 木栓; 4 . 栽培白头翁根横切面 示木栓; 5 . 栽
培白头翁根横切面, 示韧皮纤维; 6 . 栽培白头翁根横切面, 示
侵填体; 7 . 野生白头翁根横切面, 示分泌腔, 分泌道; 8 . 栽培
白头翁根横切面, 示分泌道; 9 . 野生白头翁根横切面, 示维管射
线; 10 . 栽培白头翁根横切面, 示维管射线; 11 . 野生白头翁根
横切面, 示裂隙; 12~14 皂苷组织化学定位, 示分泌腔, 分泌
道; 韧皮部; 导管管壁。

Explanation of Plate

Plate : 1 - 14, bar = 150; 129; 143; 132; 131; 140; 132;
140; 144; 134; 162; 147; 146; 141 μm
1 . Transverse view of roots (wild), showing the xylem and secretory
ducts; 2 . Transverse view of roots (cultivated), showing the secretory
xylem and vascular ray; 3 . Transverse view of roots (wild), showing the
phloem fiber; 4 . Transverse view of roots (cultivated), showing the ph-
loem; 5 . Transverse view of roots (cultivated), showing the phloem fi-
ber; 6 . Transverse view of roots (cultivated), showing the invade body;
7 . Transverse view of roots (wild), showing the secretory cavities and
ducts; 8 . Transverse view of roots (cultivated), showing the secretory
ducts; 9 . Transverse view of roots (wild), showing the vascular ray; 10 .
Transverse view of roots (cultivated), showing the vascular ray; 11 .
Transverse view of roots (wild), showing the vascular ray; 12~14 . Bar-
bloin histochemical localization, showing the secretory cavities and ducts,
the secondary phloem and the vessel wall .

王桂芹等：图版

WANG Gui-Qin *et al*: Plate

